Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК

Інститут експериментальної і клінічної

ветеринарної медицини

**ГЕРІЛОВИЧ Ірина Олександрівна**

# УДК 619:615.9:574:632.951

**ТОКСИКО-ЕКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОМАЙТУ (ПРОПАРГІТУ)**

16.00.04 – ветеринарна фармакологія та токсикологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата ветеринарних наук

Харків – 2006

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН.

***Науковий керівник*** – доктор ветеринарних наук, професор, академік УААН

**Малинін Олег Олексійович,** Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, заступник директора з наукової роботи.

***Офіційні опоненти****:*

доктор ветеринарних наук, професор, академік УААН

**Хмельницький Григорій Олександрович**, Національний аграрний

Університет Кабінету Міністрів України, директор НДІ здоров’я

тварин;

кандидат ветеринарних наук, старший науковий співробітник

**Патерега Ігор Петрович**, Державний науково-дослідний контрольний

інститут ветпрепаратів та кормових добавок Міністерства аграрної

політики України, завідувач лабораторії фармакології і токсикології.

***Провідна установа*** – Львівська національна академія ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького Міністерства аграрної політики України, кафедра фармакології та токсикології, м. Львів.

Захист відбудеться “16” травня 2006 р. о “13” годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.359.01 в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН за адресою: 61023, м. Харків, вул. Пушкінська, 83.

Автореферат розісланий “14” квітня 2006 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор ветеринарних наук,

професор \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ А.Ф. Бабкін

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Практично кожне господарство по виробництву сільськогосподарської продукції використовує пестициди. Витрати на хімічну обробку рослин з метою їх захисту від шкідників, хвороб і бур’янів відшкодовуються в одинадцятикратному розмірі за рахунок отримання кращого урожаю як за кількісними, так і за якісними показниками (Лісовий М.П., 2003; Кундиев Ю.И., 2000; Болотова Т.М., 2004). Проте хімізація сільського господарства призводить до накопичення і циркуляції в біосфері токсичних речовин (Чибураев В.И., 2003; Проданчук Н.Г., 2001; Клисенко М.А., 1999). Пестициди являють собою біологічно активні сполуки і, навіть в невеликих кількостях, є потужним фактором впливу на організм тварин, людини і довкілля в цілому (Петюх Г.П., 2005; Гуфрій Д.Ф., Гунчак В.М., Коцюмбас І.Я., 2004). У зв’язку з цим, для визначення ступеня небезпечності та встановлення максимально допустимих рівнів токсичних речовин необхідне проведення досліджень з вивчення механізму дії пестицидів, їх гострої і хронічної токсичності, персистенції у довкіллі тощо (Чибураев В.И., 2003; Куцан О.Т., 2005; Мельничук С.Д., Хмельницький Г.О., Якубчак О.М., 2005).

Омайт (пропаргіт) за хімічною структурою є ефіром сірчистої кислоти один. Він широко використовується в Україні і добре зарекомендував себе в боротьбі з кліщами-фітофагами. Особливої значимості препарат набув в АР Крим (Чабан В., 1996). Лише у 2003 р. тут було використано 1,8 тонн омайту.

Незважаючи на тривалий час і великі об’єми застосування пестициду в сільському господарстві нашої держави й інших країн, існує ряд суперечливих питань щодо його токсичних властивостей.

Вважають, що омайт (пропаргіт) відноситься до малотоксичних речовин. Однак показники токсичності пестициду в роботах різних дослідників відрізняються в два і більше разів (Мельников Н.Н., 1987; Седокур Л.К., 1986; Kiplinger G.R., 1993). Не повністю розкрито характер і не описано механізми дії препарату. При дослідженні токсикокінетики більша увага приділялась біотрансформації та виведенню омайту з організму. Проте майже не має даних щодо його розподілення та накопичення в органах і тканинах тварин. Недостатньо вивчено персистенцію пестициду на рослинах, що обробляються, хоча ці дані є необхідною умовою для визначення рівня небезпеки акарициду для диких і свійських тварин, обґрунтування максимально допустимих рівнів у кормах і продуктах харчування.

Методики визначення залишкових кількостей омайту в Україні розроблені для продуктів рослинництва, води, повітря та ґрунту. На жаль, вони не можуть бути використані для детекції препарату в об’єктах тваринного походження, що унеможливлює діагностування отруєння цим акарицидом, здійснення контролю за показниками безпечності продуктів тваринництва й інших об’єктів ветеринарного нагляду.

У зв’язку з цим, проведення токсикологічних досліджень з вивчення кінетичних властивостей омайту (пропаргіту) і впливу його на організм тварин, розробка методів визначення залишкових кількостей пестициду в об’єктах тваринного походження і дослідження характеру його розподілення в довкіллі є актуальними напрямками наукових досліджень.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконувалась згідно з тематичним планом наукових досліджень ІЕКВМ, завдання 11: „Розробити методи визначення і засоби профілактики впливу негативних факторів зовнішнього середовища на організм сільськогосподарських тварин з метою одержання екологічно безпечних продуктів тваринництва”, (номер держреєстрації 0101U001617) 2001-2005 рр.

**Мета і задачі дослідження.** Мета досліджень – вивчити токсичні властивості омайту та характер його персистенції в деяких об’єктах довкілля.

Для розв’язання цієї мети були поставлені наступні задачі:

* розробити методику визначення залишкових кількостей омайту (пропаргіту) в об’єктах тваринного походження (м’ясо, жир, внутрішні органи, молоко, яйця) і експериментально встановити її валідаційні характеристики;
* дослідити цитотоксичність пестициду для перещеплюваних культур клітин;
* вивчити токсикокінетичні властивості омайту після одноразового перорального уведення пестициду щурам і курям;
* визначити параметри токсичності препарату для щурів за умов його перорального уведення;
* вивчити вплив омайту на процеси перекисного окиснення ліпідів після одноразового перорального уведення його курям;
* вивчити токсичні властивості омайту при аплікації його на шкіру кролів;
* дослідити динаміку вмісту залишкових кількостей омайту в об’єктах довкілля після проведення дворазової обробки рослин.

**Об’єкт дослідження***:* токсико-екологічні властивості омайту.

**Предмет дослідження***:* параметри токсичності омайту; клінічні, патологоанатомічні, гематологічні та біохімічні показники тварин при отруєннях; методи визначення залишкових кількостей пестициду, тонкошарова хроматографія, газорідинна хроматографія, період напіврозкладу в об’єктах довкілля.

**Методи дослідження***.* Робота виконана з використанням загальноприйнятих токсикологічних, хіміко-аналітичних, цитологічних, клінічних, патологоанатомічних, гематологічних, біохімічних та статистичних методів дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Розроблено нову оригінальну методику визначення залишкових кількостей омайту (пропаргіту) в продуктах тваринного походження (м’ясо, жир, внутрішні органи, молоко, яйце) способами тонкошарової та газорідинної хроматографії, що відповідає вимогам стандарту ISO 17025 і “Європейської інструкції щодо застосування аналітичних методів та інтерпретації результатів ЄС 657/2002”. Наукова новизна отриманих результатів захищена двома патентами України на винахід: “Спосіб визначення омайту (пропаргіту) в біологічних об’єктах” (патент № 20031212176, 70032 А Україна, 7G01N33/00) і “Спосіб виявлення омайту (пропаргіту) на тонкошарових хроматограмах” (патент № 20031213026, 71440 А Україна, 7G01N33/00).

Вперше в Україні вивчені токсикокінетичні властивості омайту для лабораторних тварин і сільськогосподарської птиці в умовах гострого експерименту. Отримані дані щодо впливу пестициду на вільнорадикальні механізми окиснення ліпідів за умов його одноразового перорального уведення птиці. Досліджено цитотоксичну дію препарату для перещеплюваних культур клітин, яка полягає в підвищенні мітотичної активності та кількості патологічних мітозів. Доведено, що омайт виявляє сильну шкірно-резорбтивну дію в концентрації, що є рекомендованою для робочого розчину пестициду при проведенні обробки рослин проти цільових шкідників.

Вивчено характер розподілу пестициду в об’єктах довкілля після його використання у дозах, рекомендованих виробником, розраховано період, за який концентрація омайту зменшується вдвічі, для певних видів рослин.

**Практичне значення отриманих результатів.** Розроблена методика визначення залишкових кількостей омайту (пропаргіту) в об’єктах тваринного походження, яка пройшла апробацію в Центральній державній лабораторії ветеринарної медицини та затверджена Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України (наказ № 53 від 30 червня 2005 р.) і призначена для проведення досліджень з контролю якості об’єктів ветеринарного нагляду. Встановлені параметри токсичності омайту для тварин, визначені характеристики його токсикокінетики та токсикодинаміки, які можуть бути використані при обґрунтуванні максимально допустимих рівнів пестициду, в діагностичній практиці та навчальній роботі.

**Особистий внесок здобувача.** Автор дисертації самостійно провів пошук та аналіз літератури, виконав експериментальні і лабораторні дослідження. Статистично обробив і проаналізував отримані результати дослідів.

**Апробація результатів дисертації.** Результати були представлені, обговорені і схвалені на звітних сесіях вченої ради ІЕКВМ УААН у 2003-2005 роках; Міжнародній конференції молодих вчених (листопад 2003 р., м. Харків); Міжнародній науково-практичній конференції “Ветеринарна медицина – 2004” (24-29 травня 2004 р., м. Феодосія); Міжнародній науково-практичній конференції “Ветеринарна медицина – 2005” (30 травня – 4 червня 2005 р., м. Ялта); Міжнародній науковій конференції “Ветеринарні препарати: розробка, контроль якості та застосування” (4-7 жовтня 2005 р., м. Львів); V Міжнародній науково- практичній конференції “Проблеми неінфекційної патології тварин” (3-4 листопада 2005 р., м. Біла Церква).

**Публікації.** Основний зміст дисертації викладений у 7 друкованих статтях, що опубліковані у фахових виданнях, перелік яких затверджено ВАК України.

**Структура та обсяг дисертації.** Основний зміст дисертації викладений на 140 сторінках комп’ютерного друку та ілюстрований 14 таблицями і 23 рисунками. Робота складається із вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, аналізу та узагальнення власних досліджень, висновків і пропозицій виробництву, списку джерел літератури, який містить 235 найменувань, у тому числі 107 авторів з далекого зарубіжжя.

# МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Робота виконана в лабораторії токсикологічного моніторингу Центру токсикологічних досліджень Інституту експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН упродовж 2002-2005 років.

Для проведення досліджень використовували омайт, 57 % к.е. (реєстраційне посвідчення А 00402). Стандартні розчини пестициду готували в гексані з концентрацією діючої речовини 1; 10 і 100 мкг/см3. В дослідах на тваринах використовували водні емульсії токсиканту.

При розробці методики визначення пестициду в об’єктах тваринного походження для детекції омайту (пропаргіту) обрали способи газорідинної та тонкошарової хроматографії. Для вилучення препарату з матриці досліджуваного об’єкту відпрацьовували методи його екстракції органічними розчинниками. Очищення екстрактів проводили шляхом фільтрації, виморожування, перерозподілу в системі розчинників, що не змішуються, та за допомогою хроматографії на колонках.

При проведенні валідації методики дотримувались вимог стандарту ISO 17025 і визначали такі параметри, як: специфічність, точність, лінійність, відтворюваність, межа визначення та детектування, збереженість пестициду в стандартному розчині та в досліджуваній матриці.

Для вивчення цитотоксичності омайту використовували культури клітин нирки вівці (ПО-2) і нирки зеленої мавпи (Vero). Ступінь токсичності визначали на нефіксованих культурах під малим збільшенням мікроскопу. Враховували цілісність моношару, ступінь його ураження, характер розміщення клітинних елементів, кількість клітин з округленою цитоплазмою.

З метою вивчення впливу омайту на мітотичний режим культури клітин вирощували у пеніцилінових флаконах на накривних скельцях, які виймали після 24-, 48-, 72-, 96- і 120-годинного інкубування в термостаті. Клітини фіксували сумішшю льодяної оцтової кислоти і абсолютного етилового спирту у співвідношенні 1:3. Фіксовані клітини фарбували за загально прийнятою методикою гематоксиліном Каррачі (Белоконь В.С. и др., 1993). При мікроскопічному дослідженні враховували кількість клітин в стані мітотичної активності, наявність і характер патологічних мітозів, відношення різних фаз мітозу.

Визначення середньолетальної дози омайту для щурів за умови одноразового перорального уведення проводили згідно з методичними рекомендаціями “Токсикологічний контроль нових засобів захисту тварин” (1997). Обчислювали ЛД50 методом найменших квадратів з використанням пробіт-аналізу в модифікації В.Б. Прозоровського (1962), а похибку – методом Miller’a і Tainter’a (1944).

Токсикокінетику омайту в організмі ссавців і птиці після одноразового перорального уведення вивчали на моделі щурів і курей. Вміст залишкових кількостей пестициду в органах і тканинах через 4 години, 1; 3; 7; 14; 21 і 28 діб після уведення препарату визначали способом газорідинної хроматографії за розробленою нами методикою. Додатково, з метою вивчення шляхів виведення пестициду з організму ссавців, від щурів, після уведення їм омайту, щодоби збирали кал і сечу, які досліджували на наявність залишкових кількостей препарату.

Токсичність омайту для птиці вивчали в умовах гострого експерименту при одноразовому пероральному уведенні препарату в дозах 300 і 600 мг/кг курям породи Хайсекс білий масою тіла 800-1000 г. За птицею вели спостереження, встановлювали строки появи і характер клінічних ознак отруєння, після забою оцінювали патологоанатомічні зміни внутрішніх органів. Крім того, проби крові та печінки отруєної птиці відбирали для проведення гематологічних і біохімічних досліджень.

Для вивчення дерматотоксичності омайту використовували кролів чорно-вогняної породи масою тіла 2,5-3,3 кг. Препарат у формі 0,2 % водної і 57 % концентрат емульсії наносили на ділянку шкіри розміром 4х6 см в ділянці стегна в дозі 2 і 570 мг/кг маси тіла, відповідно. Спостереження за дослідними тваринами тривали впродовж 21 доби, при цьому враховували загальний стан піддослідних кролів, кількість корму та води, що споживались, глибину і характер уражень шкіри в місці аплікації пестициду, а також строки загибелі або видужання тварин. Кров для проведення гематологічних і біохімічних досліджень відбирали з вушної вени на 1, 3, 7 і 14 добу після аплікації омайту.

Для оцінки впливу досліджуваного пестициду на організм курей і кролів використовували наступні гематологічні тести: кількість еритроцитів визначали фотометричним методом на КФК-2 (Заболоцкий В.Т., 1965), кількість лейкоцитів підраховували у камері Горяєва, вираховували лейкоформулу (Кондрахін І.П., 1985), концентрацію загального гемоглобіну встановлювали за допомогою ацетонціангідридного методу (Строев Е.А., 1986).

З біохімічних параметрів в плазмі крові дослідних тварин визначали активність трансаміназ із використанням комерційних наборів ТОВ НВП “Філісіт-Діагностика” (Україна, 2005 р.); вміст холестерину – за методом Ілька (Клисенко И.П., 1985), а загальних ліпідів – за реакцією з сульфофосфованіліновим реактивом. Про інтенсивність процесів вільнорадикального перекисного окиснення судили за рівнем дієнових кон’югатів і малонового діальдегіду, які визначали в плазмі крові і печінці (Мешкова Н.П., 1979; Гаврилова В.Б., 1983). Активність каталази визначали за реакцією з молібдатом амонію (Королюк М.А., 1988). Для оцінки загальної антиоксидантної активності плазми використовували модельну систему, що являє собою суспензію ліпопротеїдів жовтка курячих яєць (Келебанов Г.И., 1988). Стійкість мембран еритроцитів до перекисного гемолізу визначали за методом Ягера (Jager F.C., 1968) та за реакцією з лимонною кислотою.

Вивчення персистенції омайту в об’єктах довкілля проводили в умовах приватного господарства Дергачівського району Харківської області після дворазової обробки яблунь і винограду пестицидом у дозах, рекомендованих виробником. Проби рослин і ґрунту відбирали кожні сім днів упродовж 14 тижнів. Визначення вмісту залишкових кількостей пестициду проводили способом газорідинної хроматографії за розробленою нами методикою. Всього за дослідний період було проаналізовано 44 проби ґрунту, 158 проб листя і трави та 41 пробу плодів (яблука, виноград, полуниця). Період, за який вміст залишкових кількостей омайту на рослинах зменшувався вдвічі, визначали шляхом математичної моделі кінетичного процесу першого порядку (Голубев А.А. и др., 1973).

Статистичний аналіз отриманих резулитатів проводили за допомогою редактора електронних таблиць Excel 2000.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

**Розробка методики визначення омайту (пропаргіту) в об’єктах тваринного походження та її валідація.** Існуючі в Україні методики визначення залишкових кількостей омайту в рослинах, воді та ґрунті мають ряд недоліків, пов’язаних з технікою виконання робіт і неможливістю прямого їх використання для аналізу біосубстратів. Тому, ми мали розробити економну та чутливу методику визначення залишкових кількостей омайту в об’єктах тваринного походження.

Відпрацьовували два шляхи детекції пестициду: способом газорідинної і тонкошарової хроматографії.

У першому випадку визначення пестициду проводили на газорідинному хроматографі з детектором постійної швидкості рекомбінації “Цвет-500”. Скляну колонку приладу довжиною один метр заповнювали хроматоном inerton-super /0,16-0,20/ з нанесеною рідинною фазою SE-30 у кількості 5 %. Як газ-носій використовували азот особливої чистоти. Шляхом експериментального підбору різних режимів роботи хроматографу визначили, що оптимальними для детекції омайту є наступні температури робочих термостатів: випарювача – 250°С, колонки – 240°С, детектору – 260°С, та швидкість подачі газу на колонку 30 см3 за хвилину. Мінімальна кількість омайту (пропаргіту), що детектується, при цьому дорівнювала 4 нг.

При визначенні пестициду способом тонкошарової хроматографії дослідження були спрямовані на пошук реактиву або суміші реактивів, які б проявляли омайт на хроматографічних пластинках, а також такої рухомої фази розчинників, яка б забезпечувала Rf препарату на рівні 0,7-0,8.

Найбільш придатним для візуалізації омайту виявився спосіб, який базується на подвійній обробці хроматографічних пластинок: спочатку 2 N спиртовим розчином калію гідроксиду з наступним їх прогріванням протягом 7 хвилин при 110°С, а потім ацетоновим розчином солі діазонію. При цьому в лужному середовищі відбувається розклад омайту з утворенням спиртів, які окислюються сіллю діазонію до альдегідів, а альдегіди у свою чергу реагують з залишками солі діазонію з утворенням забарвлених продуктів. За результатами наших досліджень найкращим реактивом для виявлення пестициду з солей діазонію був стійкий синій Б. Омайт проявлявся у вигляді плям жовтого кольору на темно-фіолетовому фоні. При обробці пластинок стійким червоним В або ГГ межа в забарвленні плям препарату і фоном була менш чіткою.

При визначенні рухомої системи спочатку перевіряли різні розчинники в чистому вигляді: гексан, бензол, ацетон, хлороформ та ефір. При цьому встановили, що Rf омайту в гексані дорівнювало нулю, тобто препарат залишався на лінії старту. В ацетоні і ефірі препарат піднімався за фронтом розчинника. Rf омайту в хлороформі і бензолі становило 0,45 і 0,64, відповідно, причому плями препарату були вертикально розтягнуті. Таким чином, жоден з вище зазначених розчинників не відповідав висунутим до рухомої фази вимогам. Тому випробували суміші розчинників: гексан-ефір у співвідношенні 1:1; 3:2 і гексан-ацетон у співвідношенні 1:1; 3:2. При цьому встановили, що Rf омайту в сумішах гексан-ефір 3:2 і гексан-ацетон 1:1 дорівнювало 0,82 і 0,96, відповідно, тобто було завелике. А в сумішах гексан-ефір 1:1 і гексан-ацетон 3:2 коливалось від 0,68 до 0,76. Проте при хроматографуванні в системі гексан-ефір плями омайту були горизонтально розтягнутими і мали вигляд овалу, а в системі гексан-ацетон – плями за формою наближались до кола. Тобто оптимальною рухомою системою для визначення омайту виявилась суміш гексану й ацетону в співвідношенні 3:2. Межа детектування омайту тонкошаровою хроматографію при цьому складала 1 мкг.

У подальшій роботі наші зусилля були спрямовані на розробку способу вилучення пестициду із матриці, що досліджується, очищення та концентрування екстрактів. Як матрицю використовували м’ясо, молоко, жир, жовток курячого яйця. Оптимальним екстрагентом омайту виявився ацетон, який забезпечував максимальне вилучення внесеного препарату з біосубстратів. Проте разом з препаратом в екстракт переходили і такі небажані компоненти, як ліпіди, каротиноїди тощо.

Очищення проб проводили у декілька етапів. Спочатку ацетоновий екстракт відфільтровували у чистий флакон крізь паперовий фільтр і звільняли від жирових домішок шляхом їх виморожування при температурі мінус 18 – 20ºС впродовж однієї години. На цьому етапі для кращого очищення до екстрактів додавали дистильовану воду в співвідношенні 4:1, відповідно. Далі з водно-ацетонового розчину омайт переводили в гексан. Доочищення гексанового реекстракту проводили за допомогою хроматографії на розподільчих колонках. Як сорбент виступав оксид алюмінію ІІ ступеня активності. Нами було встановлено, що при внесенні в хроматографічну колонку 9-10 см3 гексанового реекстракту омайт повністю адсорбується на оксиді алюмінію. Після чого достатньо внести лише 3 см3 суміші гексан-ацетону 19:1, щоб елюювати його з колонки. Таким чином, відбувається концентрування препарату та забезпечується достатньо якісне очищення екстрактів від коекстрактивних речовин для проведення подальшої ідентифікації препарату способами газорідинної або тонкошарової хроматографії.

Після розробки методики визначення залишкових кількостей омайту (пропаргіту) в об’єктах тваринного походження були проведені експериментальні дослідження зі встановлення її валідаційних параметрів. Як біологічну матрицю використовували молоко, в яке штучно вносили відому кількість пестициду.

Встановлено, що розроблена методика є специфічною, точною, лінійною та відтворюваною. Межа визначення омайту способом газорідинної хроматографії дорівнює 0,028 мг/кг, а способом тонкошарової – 0,645 мг/кг. В стандартному гексановому розчині омайт не руйнується впродовж чотирьох тижнів, проте оптимальними умовами його зберігання є посуд з темного скла і температура плюс 4ºС та мінус 20ºС. При цьому максимально припустимий термін зберігання зразків молока для дослідження на вміст омайту в умовах морозильної камери побутового холодильнику (при температурі мінус 20ºС) становить один тиждень.

Наукова новизна означених в методиці способів детекції омайту захищена деклараційними патентами України на винахід: деклараційний пат. № 20031212176 Україна, 7 G01N33/00 “Спосіб визначення омайту(пропаргіту) в біологічних об’єктах”; деклараційний пат. № 20031213026 Україна, 7 G01N33/00 “Спосіб виявлення омайту (пропаргіту) на тонкошарових хроматограмах”.

На основі проведених досліджень оформлено “Методичні вказівки щодо визначення омайту (пропаргіту) в об’єктах тваринного походження (м’ясо, жир, молоко, яйце) способами газорідинної та тонкошарової хроматографії”, які затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства аграрної політики України (наказ № 53 від 30 червня 2005 р.) і рекомендовані для використання у практиці ветеринарної медицини.

**Дослідження цитотоксичної дії омайту на перещеплюваних культурах клітин.** Визначення токсичності омайту in vitro проводили на перещеплюваних культурах клітин нирки вівці (ПО-2) та нирки зеленої мавпи (Vero).Пестицид вносили до живильного середовища в десятикратних розведеннях від 2000 до 0,2 мкг/см3. За результатами наших спостережень, при внесенні розчину омайту в живильне середовище культури ПО-2 в дозі 2000 мкг/см3 відбувалось округлення, роз’єднання клітин моношару і відторгнення їх з поверхні скла. При зменшенні дози в десять разів лише поодинокі округлені клітини залишились прикріпленими до поверхні скла культуральних посудин через 24 години після внесення препарату. При дозі омайту 20 мкг/см3 більше ніж 40-50 % клітин залишились живими, але більшість з них відторгалась на 2-3 добу після початку досліду. При дозі 2 мкг/см3 омайт спричиняв появу віконець у моношарі культури на 3-ю добу після внесення та сприяв швидкому старінню клітин. В дозі 0,2 мкг/см3 були помічені лише поодинокі круглі клітини з ознаками інтоксикації на фоні маси нормальних. Така ж картина токсичного впливу пестициду спостерігалась і на культурі Vero, але вона виявилась більш чутливою до дії омайту. Середньотоксичні дози для культур клітин Vero і ПО-2 склали, відповідно, 2 і 20 мкг/см3 живильного середовища.

**При дослідженні впливу омайту на мітотичний режим перещеплюваних культур клітин нами було встановлено, що пестицид в концентраціях 0,02 і 0,2 мкг/см3 живильного середовища спершу стимулює, а потім пригнічує проліферативні процеси в перещеплювальних культурах клітин (рис. 1).**

**Одночасно з підвищенням мітотичної активності клітин вірогідно зростав і рівень патологічних мітозів. Останні найчастіше були пов’язані з ураженням хромосом і виявлялись утворенням мікроядер. Зустрічались також патологічні мітози, обумовлені порушеннями мітотичного апарату, – колхіциноподібний і триполюсний.**

|  |  |
| --- | --- |
| б.)  а.) |  |

Рис. 1 Динаміка мітотичної активності перещеплюваних культур клітин після внесення різних доз омайту: а.) культура клітин нирки вівці (ПО-2), доза 0,2 мкг/см3; б.) культура клітин нирки зеленої мавпи (Vero), доза 0,02 мкг/см3

Узагальнюючи отримані результати, зазначимо, що вплив омайту на перещеплювані культури клітин ПО-2 і Vero характеризувався як явищами вакуолізації, балоноподібної дистрофії та токсигенного лізису клітин, так і мітогенним ефектом.

**Вивчення токсичних властивостей омайту на щурах при одноразовому пероральному уведенні.** Для вивчення клінічної картини гострого отруєння та визначення середньолетальної дози щурам одноразово перорально уводили омайт в дозах 1100; 1200; 1300; 1400; 1500; 1600 і 1700 мг/кг маси тіла.

Одразу після уведення пестициду у щурів спостерігали нетривале збудження, що виявлялось неспокоєм, безперервним пересуванням по клітці і перериванням підстилки з тирси. Через декілька хвилин збудження змінювалось пригніченням: тварини скупчувались, мало рухались. Дихання щурів було прискореним, поверхневим, а у окремих особин, яким уводили омайт у дозі 1600 і 1700 мг/кг, з хрипами. Від корму тварини не відмовлялись, проте поїдали його значно менше, ніж щури контрольної групи.

На другу добу після уведення омайту у більшості піддослідних щурів відмічали криваві виділення з носа і у кутках очей. Шерстяний покрив на медіальній поверхні грудних кінцівок був забруднений кров’ю, що пов’язано з “вмиванням” мордочки. Також реєстрували порушення з боку сечовивідної системи, що характеризувались полакіурією. У більшості випадків тварини скупчувались, але деякі щури, настовбурчившись, сиділи окремо від інших.

Загибель піддослідних тварин відбувалась здебільшого протягом першого тижня після уведення омайту, особливо на другу та третю доби.

При патологоанатомічному розтині загиблих тварин відмічали наступну картину. Всі кровоносні судини організму були кровонаповненими, кров – темна, незгорнута. В ділянці задніх кінцівок під шкірою часто спостерігали крововиливи. Серце збільшене, кровонаповнене, поряд з кров’ю, яка не згорнулась, були згустки. Шлунок сильно здутий, як правило, з виразками або геморагічним запаленням слизової оболонки. Вмістиме шлунку мало виражений запах, властивий омайту. Печінка з вісцеральної поверхні у декількох місцях мала жовто-коричневі плями некрозу. Кишки, як тонка, так і товста, також здуті з ознаками запалення. Загибель тварин спричинювалась асфіксією або зупинкою серця.

Проаналізувавши рівень летальності щурів у кожній групі за методом пробіт-аналізу, встановили, що ЛД50 омайту для щурів за перорального уведення складає 1293,0 ± 39,5 мг/кг, ЛД16 і ЛД84 – 1148,0 і 1438,0 мг/кг, відповідно.

Таким чином, згідно з гігієнічною класифікацією віднесли досліджуваний пестицид до малотоксичних речовин.

Токсикокінетика омайту в організмі щурів після перорального уведення препарату в дозі 600 мг/кг маси тіла характеризувалась поступовим, упродовж одного тижня, зменшенням його концентрації в шлунку (табл. 1).

Таблиця 1

# Динаміка накопичення омайту в органах і тканинах щурів після одноразового перорального уведення в дозі 600 мг/кг маси тіла (M±m, n=4)

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Орган (тканина), що досліджували | Вміст омайту (мг/кг) після його уведення через | | | | | | |
| годин | діб | | | | | |
| 4 | 1 | 3 | 7 | 14 | 21 | 28 |
| Кров | 0,116  ± 0,01 | 0,025  ± 0,005 | – | 0,041  ± 0,02 | – | – | – |
| Мозок | 0,182  ± 0,02 | – | – | – | – | – | – |
| Серце | 0,631  ± 0,11 | 0,227  ± 0,07 | 0,167  ± 0,04 | – | – | – | – |
| Легені | 0,479  ± 0,03 | 0,217  ± 0,09 | 0,108  ± 0,08 | – | – | – | – |
| Нирки | 0,469  ± 0,09 | 0,21\* | 0,053  ± 0,07 | – | – | – | – |
| Печінка | 0,062  ± 0,01 | 0,293  ± 0,07 | 0,149  ± 0,04 | 0,045\* | 0,063  ± 0,007 | – | – |
| М’язи | 0,238  ± 0,07 | 0,327  ± 0,06 | 0,195  ± 0,04 | 0,076  ± 0,01 | 0,058  ± 0,02 | 0,010\*\* | –\*\* |
| Жир | 0,366  ± 0,10 | 0,733  ± 0,06 | 1,554  ± 0,08 | 0,513  ± 0,26 | 0,180  ± 0,04 | 0,093  ± 0,02 | 0,080  ± 0,02 |
| Вмістиме тонкої кишки з фрагментами стінки | 1,215  ± 0,25 | 17,86  ± 2,83 | 0,674  ± 0,14 | – | – | – | – |
| Вмістиме товстої кишки з фрагментами стінки | 14,809  ± 4,39 | 43,850  ± 9,48 | 7,581  ± 0,14 | 0,323  ± 0,04 | 0,219\* | – | – |
| Вмістиме шлунку | 174,797  ± 40,07 | 155,08  ± 8,7 | 117,39  ±17,97 | 11,246  ± 2,51 | – | – | – |

Примітки: 1. – - вміст залишкових кількостей омайту менше межі визначення

методу (0,002 мг/кг);

2. \* - залишкові кількості омайту знайдено в одній з чотирьох проб,

що досліджувались окремо;

1. \*\* - досліджували об’єднану пробу від чотирьох тварин.

При цьому у перші чотири години після уведення омайту в організм мало місце, так зване, динамічне розподілення пестициду, яке визначається інтенсивністю кровообігу в органах. У цей строк свого максимального значення концентрація омайту набувала в крові, серці, легенях, нирках і в мозку. Надалі відбувався перерозподіл препарату і накопичення його в м’язовій та жировій тканинах, де він перебував довше місяця.

Щодо виведення пестициду з організму, то за результатами наших досліджень основним шляхом елімінації був травний канал. При цьому максимальна концентрація омайту в фекаліях спостерігалась на першу й третю доби і складала 34,42 ± 3,1 і 19,20 ± 0,8 мг/кг, відповідно. Виведення препарату з сечею у щурів відбувалось незначною мірою та спостерігалось не в усіх дослідних тварин.

**Вивчення токсичних властивостей омайту на курях за умов одноразового перорального уведення.** Вивчення токсикокінетики пестициду та його впливу на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів в організмі курей проводили за умов одноразового перорального уведення омайту в дозах 300 і 600 мг/кг маси тіла.

За нашими спостереженнями динаміка вмісту залишків пестициду у вмістимому м’язового шлунку була схожою у курей обох дослідних груп. Так, максимальний вміст препарату визначали через одну добу після уведення. На 3-ю добу рівень його зменшувався майже на 99,8%. Надалі цей процес уповільнювався і, таким чином, на 14-ту добу досліду у вмістимому шлунку реєстрували невеликі кількості омайту (табл. 2).

Відмітимо, що через 4-и години від початку досліду залишкові кількості пестициду виявлялись майже в усіх органах і тканинах організму: серці, нирках, легенях, білих і червоних м’язах. Причому у курей, яким омайт уводили в дозі 300 мг/кг, рівень його вмісту у м’язах був максимальним, і в подальші строки препарат у цих тканинах не виявляли. У курей, яким уводили 600 мг омайту на кілограм маси тіла, максимальний вміст залишкових кількостей пестициду в м’язовій тканині спостерігали на першу добу досліду. А вже на 3-ю добу рівень омайту в білих м’язах був меншим за межу визначення методу, а в червоних – препарат виявляли у невеликих кількостях ще на 3-тю й 7-му добу.

Через одну добу після уведення максимального значення концентрація омайту набула у серці, легенях, нирках і жирі птиці в обох дослідних групах. Причому жирова тканина містила найбільшу кількість омайту.

Основним шляхом виведення пестициду був шлунково-кишковий тракт. Терміни евакуації акарициду з калом залежали від уведеної дози – чим вище доза, тим пізніше спостерігався пік виведення. Так, максимальна концентрація омайту у вмістимому товстої кишки була відмічена у курей, яким пестицид уводили в дозі 300 мг/кг, через 4-и години після уведення, а у курей, що отримали 600 мг діючої речовини на кілограм маси тіла, – через одну добу.

В цілому пестицид з організму птиці піддавався елімінації досить швидко. Вже на сьому добу після уведення вміст його у внутрішніх органах і тканинах був меншим за межу визначення методу. Винятком став лише травний канал: у вмістимому шлунку і товстої кишки знаходили залишкові кількості дослідного препарату впродовж всього дослідного періоду.

###### Таблиця 2

Динаміка накопичення омайту в органах і тканинах курей після одноразового

перорального уведення в дозі 300 і 600 мг/кг маси тіла (M ± m, n=4)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва органу (тканини) | Кількість омайту, що уводили, мг/кг | Вміст омайту, мг/кг, після уведення через | | | | |
| годин | діб | | | |
| 4 | 1 | 3 | 7 | 14 |
| Кров | 300 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 600 | --- | --- | --- | 0,005/0,003/  --- | --- |
| Мозок | 300 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 600 | --- | 0,375  ± 0,083 | --- | --- | --- |
| Серце | 300 | 0,037\* | 0,376  ± 0,037 | --- | --- | --- |
| 600 | 0,031  ± 0,004 | 0,510  ± 0,007 | --- | --- | --- |
| Легені | 300 | 0,028  ± 0,004 | 1,45\*/--- | --- | --- | --- |
| 600 | 0,273  ± 0,111 | 0,811  ± 0,460 | --- | 0,014\* | --- |
| Нирки | 300 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 600 | 0,044\* | 0,095  ± 0,016 | --- | --- | --- |
| Печінка | 300 | --- | --- | --- | --- | --- |
| 600 | --- | --- | --- | --- | --- |
| Білі м’язи | 300 | 0,054  ± 0,008 | --- | --- | --- | --- |
| 600 | 0,094  ± 0,027 | 0,714  ± 0,078 | --- | --- | --- |
| Червоні м’язи | 300 | 0,121  ± 0,017 | --- | --- | --- | --- |
| 600 | 0,093  ± 0,029 | 0,348  ± 0,041 | 0,027\* | 0,009\* | --- |
| Жир | 300 | не дослідж. | 3,321  ± 0,363 | 0,267  ± 0,016 | --- | --- |
| 600 | не дослідж. | 5,973  ± 0,667 | 0,315  ± 0,082 | --- | --- |
| Вмістиме шлунку | 300 | 33,130  ± 3,535 | 87,542  ± 15,758 | --- | 0,060  ± 0,004 | 0,016\* |
| 600 | 43,562  ± 6,779 | 197,701  ± 36,829 | 0,368\* | 0,096  ± 0,018 | 0,062  ±0,009 |
| Вмістиме товстої кишки | 300 | 49,564  ± 9,858 | 16,864  ± 2,321 | --- | 0,030  ± 0,006 | --- |
| 600 | 19,199  ± 3,144 | 40,808  ± 14,054 | --- | 0,043  ± 0,006 | 0,006 |

Примітки: 1.---- вміст залишкових кількостей омайту менше межі визначення методу (0,02 мг/кг);

2. \* - залишкові кількості омайту знайдено в одній з чотирьох проб, що досліджувались окремо.

вмістимому товстої кишки була відмічена у курей, яким пестицид уводили в дозі 300 мг/кг, через 4-и години після уведення, а у курей, що отримали 600 мг діючої речовини на кілограм маси тіла, – через одну добу.

При вивченні токсичної дії омайту на організм птиці було встановлено, що пестицид посилює інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів. Це проявляється підвищенням вмісту первинних і вторинних продуктів окиснення в плазмі крові і печінці отруєної птиці вже через 4 години після уведення препарату. Непрямим доказом активації процесів пероксидації було підвищення чутливості мембран еритроцитів до дії кисню і лимонної кислоти, що проявилося збільшенням відсотку гемолізу відповідних клітин в реакції Ягера та цитрат-індукованого. Крім того, в печінці спостерігали вірогідне підвищення активності каталази. Водночас різке зменшення активності цього ферменту в печінці курей, яким уводили омайт у дозі 600 мг/кг, на 14 добу досліду з одночасним збільшенням вмісту дієнових кон’югатів і малонового диальдегіду може свідчити про виникнення стадії декомпенсації процесів пероксидації.

Резерви антиоксидантної системи крові оцінювали за реакцією із застосуванням жовткових ліпопротеїдів. Було встановлено, що рівень антиоксидантної активності плазми крові відразу після уведення омайту зменшувався, проте такий стан в організмі птиці тривав недовго, і вже на першу добу досліду активність захисної системи відновлювалась до рівня контрольних показників.

Таким чином, можна стверджувати, що у дослідних курей, яким уводили омайт у дозах 300 і 600 мг/кг маси тіла, відбувалось посилення процесів перекисного окиснення ліпідів і нетривале порушення стану ендогенної антиоксидантної системи. Причому, ці зміни мали виражену залежність від дози препарату.

**Вивчення токсичних властивостей омайту за умов аплікації його на шкіру кролів**. Вивчення дерматотоксичності омайту проводили на кролях за умов нанесення його на шкіру в дозах 2 і 570 мг/кг маси тіла у формі емульсій з концентраціями діючої речовини 0,2 % і 57 %, відповідно. Встановлено, що при аплікації 0,2 % водної емульсії на обробленій ділянці шкіри утворюється велика кількість дрібних везикул, які впродовж 3-4 діб лопаються з утворенням ерозій, або підсихають в тонкі кірочки. На 7-10 добу вся шкіра у місці нанесення була вкрита сухими, порепаними білувато-жовтими кірочками. На 17-у добу місце аплікації омайту почало заростати шерстю.

За умов нанесення на шкіру комерційної 57 % концентрат емульсії омайту у кролів спостерігали пригнічений стан, зменшення апетиту, розлади з боку травного каналу, зниження маси тіла. Два кролі з цієї групи загинули на 16 і 17 добу після аплікації пестициду. На патологоанатомічному розтині відмічали крайові некрози печінки і збільшені сірого кольору нирки. На обробленій ділянці спостерігали почервоніння шкіри, інтенсивність якого поступово зменшувалась. Шкіра при цьому набула зморшкуватого вигляду і дедалі ставала більш щільною. На 15-16 добу вона порепалась і почала відпадати великими шматками, під нею спостерігали новий ніжний місцями з ерозіями епітелій рожево-червоного кольору. Шерсть на обробленій ділянці почала рости на 28-30 добу від початку досліду.

##### Біохімічними дослідженнями було встановлено активацію процесів перекисного окиснення ліпідів. Так, в плазмі крові реєстрували підвищення вмісту дієнових кон’югатів на 10,2-68,5 % у тварин, яким омайт наносили на шкіру в дозі 2 мг/кг, і на 36,2-143,0 % у тварин, яким аплікацію препарату робили в дозі 570 мг/кг. Також впродовж всього періоду спостереження відмічали зростання концентрації малонового диальдегіду. На 14 добу досліду цей показник перевищував контрольний в 1,8 раз у кролів першої групи та майже в 4 рази у тварин другої групи. Рівень активності каталази у кролів обох дослідних груп через одну добу після нанесення пестициду вірогідно підвищувався більше, ніж на 20 %. Проте, якщо у тварин першої групи він залишався стало вищим за контрольні показники впродовж всього досліду, то у кролів другої групи на 14 добу активність цього ферменту стрімко зменшувалась до рівня меншого за контроль. Різке підвищення вмісту дієнових кон’югатів і малонового диальдегіду та зменшення активності каталази на 14 добу у кролів, яким препарат наносили в дозі 570 мг/кг, свідчили про розвиток стадії декомпенсації окислювальних процесів.

Із отриманих нами результатів витікає, що омайт характеризується високою подразнюючою дією на шкіру і виявляє шкірно-резорбтивні властивості. Останнє проявляється посиленням процесів перекисного окиснення ліпідів і порушенням стану ендогенної антиоксидантної системи, причому ці зміни носять виражений дозозалежний характер.

**Вивчення динаміки вмісту залишкових кількостей омайту в об’єктах довкілля після обробки винограду і яблунь**. Вивчення характеру розподілу пестицидів в об’єктах довкілля та встановлення строків їх персистенції є необхідною умовою для регламентування норм і термінів обробки рослин, оцінки загальної екологічної небезпеки, що спричинюється їх застосуванням, обґрунтування максимально допустимих рівнів.

Аналіз наявності залишкових кількостей омайту в довкіллі після дворазової обробки яблунь і виноградників у дозах, рекомендованих виробником, показав, що первинна концентрація пестициду і динаміка її зменшення в досліджуваних об’єктах були різними (табл. 3).

У ґрунті залишкові кількості омайту знаходили перші п’ять тижнів після обробки. Їх концентрація постійно коливалась, що могло бути пов’язано з кліматичними умовами, рясними опадами та фізико-хімічними властивостями ґрунту.

Листя винограду на 7-му добу після обробки містили омайт в концентрації 0,61 мг/кг. Вміст залишкових кількостей пестициду зменшувався поступово протягом п’яти тижнів.

Первинна концентрація омайту в листях яблуні становила 3,74 мг/кг. Динаміка її зменшення мала два піки зростання вмісту залишкових кількостей акарициду, що, на нашу думку, можна пояснити сезонним підсиханням листя. На 14-ту добу досліджень листя яблуні містили 0,98 мг/кг омайту.

В листях полуниці та траві, які росли в безпосередній близькості один до одного та до яблунь, що обробляли, концентрація досліджуваного препарату на 7-му добу після обробки була різною. Важливо відмітити, що вміст пестициду в листі полуниці перевищував його вміст у листі яблуні, яка була цільовою рослиною. На нашу думку, цей факт може бути обумовленим особливостями будови поверхні листя (площа, кількість волосків тощо), а також темпами їх росту.

Що стосується плодів, то в полуниці пестицид у вищих за МДР (0,05 мг/кг) концентраціях знаходили впродовж усього періоду плодоношення (перші три тижні дослідження). В яблуках омайт виявляли у слідових кількостях лише в шкірці, віджимки і сік пестициду не містили. В плодах винограду вже на четвертий тиждень дослідження були виявлені лише сліди омайту. Припускаємо, що таке швидке зменшення вмісту омайту в яблуках і винограді відбувалось, в основному, за рахунок відносних втрат, що були обумовлені ростом плодів.

Період, за який концентрація омайту зменшувалась вдвічі, розраховували графічно за допомогою математичної моделі кінетичного процесу першого порядку. Визначили, що Т1/2 для листя винограду становить 10,2 доби, для листя яблуні – 47,5 діб, а для листя полуниці – 17,5 діб.

### Таблиця 3

#### **Динаміка накопичення омайту в об’єктах довкілля після дворазової обробки яблунь і винограду**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Об’єкти, що досліджували | Вміст омайту, мг/кг, після другої обробки через, тижнів | | | | | | | | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| Ґрунт під лозою винограду | 0,16  ± 0,03 | 0,1 | 0,31  ± 0,146 | --- | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| Ґрунт під яблунями | --- | 0,23  ± 0,023 | 0,075  ± 0,017 | --- | 0,012  ± 0,003 | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| Листя винограду | 0,605  ± 0,039 | 0,315  ± 0,009 | 0,49  ± 0,022 | 0,18  ± 0,008 | 0,095  ± 0,003 | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| Листя яблуні | 3,74  ± 0,123 | 2,61  ± 0,21 | 2,76  ± 0,125 | 2,4  ± 0,099 | 1,3  ± 0,04 | 1,57  ± 0,048 | 2,01  ± 0,062 | 2,13  ± 0,099 | 1,46  ± 0,115 | 1,43  ± 0,046 | 1,865  ± 0,059 | 1,595  ± 0,119 | 1,78  ± 0,138 | 0,975  ± 0,057 |
| Листя полуниці | 4,71  ± 0,62 | 4,02  ± 0,31 | 3,64  ± 0,258 | 1,73  ± 0,06 | 0,9  ± 0,03 | 0,68  ± 0,038 | 0,18  ± 0,012 | 0,21  ± 0,014 | --- | 0,08  ± 0,009 | 0,04  ± 0,006 | 0,16  ± 0,007 | 0,075  ± 0,007 | 0,018  ± 0,002 |
| Трава під яблунями | 0,44  ± 0,057 | 0,2  ± 0,008 | --- | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| Плоди винограду | \*\*\*\*\* | 0,08\* | 0,08  ± 0,014 | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| Плоди яблуні:   * Шкірка * М’якоть * Сік | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | 0,055  ± 0,002 | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | --- | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | --- | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |
| Плоди полуниці | 0,16  ± 0,03 | 0,08  ± 0,028 | 0,075  ± 0,035 | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* | \*\*\*\*\* |

Примітки: 1. \* - досліджувалась лише одна проба;

2. --- - вміст омайту менший за межу визначення методу (0,01 мг/кг);

3. \*\*\*\* - проби не досліджувались.

ВИСНОВКИ

1. У дисертації представлені дані з вивчення токсико-екологічної характеристики омайту (пропаргіту): розроблено методику визначення залишкових кількостей омайту в об’єктах тваринного походження; визначено ступінь токсичності омайту (пропаргіту) для лабораторних тварин; вивчено токсикокінетику в організмі щурів і курей, цитотоксичні властивості та шкірно-резорбтивну дію, вплив на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів; проаналізовано особливості персистенції пестициду в об’єктах довкілля після обробки яблунь і винограду у виробничих умовах.

2. Розроблена методика визначення залишкових кількостей омайту (пропаргіту) в об’єктах тваринного походження (м’ясо, жир, внутрішні органи, молоко, яйця) базується на вилученні пестициду з проби ацетоном, очищенні екстрактів способами фільтрації, виморожування та перерозподілу в гексан, доочищенні й концентруванні на хроматографічних колонках з оксидом алюмінію та подальшій ідентифікації пестициду газорідинною або тонкошаровою хроматографією. Межа детектування досліджуваного пестициду газорідинною хроматографією складає 4 нг, тонкошаровою – 1 мкг. Валідаційні характеристики методики відповідають вимогам стандарту ISO 17025.

3. Омайт є токсичним для культури клітин ПО-2 та високотоксичним для культури клітин Vero: клітини виживали і лишалися прикріпленими до скляної поверхні при максимальній дозі пестициду 20 і 2 мкг/см3, відповідно. Вплив пестициду характеризуєтьсяся явищами вакуолізації, балоноподібної дистрофії та токсигенного лізису клітин. В концентраціях 0,02 і 0,2 мкг/см3 живильного середовища препарат спершу стимулює, а потім пригнічує проліферативні процеси в перещеплюваних культурах клітин, що супроводжується достовірним збільшенням кількості патологічних мітозів.

4. Середньолетальна доза омайту для білих щурів при пероральному уведенні складає 1293,0±39,5 мг/кг, ЛД16 і ЛД84 – 1148,0 і 1438,0 мг/кг, відповідно, що дає змогу за гігієнічною класифікацією віднести омайт до малотоксичних речовин.

5. Основними клінічними ознаками гострого отруєння щурів омайтом є пригнічення, порушення з боку сечовивідної системи (полакіурія), шлунково-кишкового тракту (несформовані калові маси), а також назальна та окулярна кровотечі. Патологоанатомічні зміни характеризуються сильним здуттям шлунку з ураженнями слизової оболонки виразкового характеру, легеневим серцем та застійними явищами в органах і тканинах організму.

6. Токсикокінетика омайту в організмі щурів за умови одноразового перорального уведення в дозі 600 мг/кг маси тіла характеризується поступовим зменшенням його концентрації у вмістимому шлунка та накопиченням у м’язовій та жировій тканинах, де він перебуває довше місяця. Виведення незміненого пестициду відбувається переважно з калом, в якому максимальна концентрація омайту спостерігається на першу і третю добу після уведення – 34,4±3,1 і 19,2±0,8  мг/кг, відповідно.

7. Омайт в організмі курей за умов одноразового перорального уведення в дозах 300 і 600 мг/кг маси тіла через 4 години розподіляється майже в усіх органах і тканинах організму; через одну добу його концентрація набуває максимального значення в мозку, серці, легенях, нирках і жирі, при цьому найбільше залишкових кількостей пестициду містить жирова тканина (на рівні 3,321±0,363 і 5,973±0,667 мг/кг, відповідно уведеної дози). Основним шляхом виведення омайту з організму курей є травний канал. Максимум евакуації спостерігається через 4 години після уведення пестициду у дозі 300 мг/кг і через одну добу після уведення у дозі 600 мг/кг.

8. Токсичний вплив омайту на організм птиці за умов одноразового перорального уведення в дозах 300 і 600 мг/кг маси тіла характеризується посиленням інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів, що виявляється вірогідним підвищенням концентрації дієнових кон’югатів і малонового диальдегіду в плазмі крові і печінці, а також активацією ферментативної та неферментативної ендогенних антиоксидантних систем. Дія пестициду при цьому має прямий дозозалежний ефект.

9. Омайт є сильно подразнюючою речовиною: аплікація на шкіру 0,2 % водної та 57 % концентрат емульсії призводить до розвитку патологічних процесів за типом екзематозного дерматиту та сухої гангрени, відповідно. Активація процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і порушення функцій антиоксидантної системи організму за умов нанесення на шкіру омайту в дозах 2 і 570 мг/кг свідчать про резорбтивну дію пестициду і носіть прямий дозозалежний характер.

10. Моніторинг залишкових кількостей омайту в довкіллі при його використанні у виробничих умовах показав, що пестицид у листях яблуні і винограду зберігається впродовж 14 тижнів. Період зменшення концентрації омайту вдвічі складає для листя винограду 10,2 доби, для листя яблуні – 47,5 діб, для листя полуниці – 17,5 діб.

# ПРОПОЗИЦІЇ ДЛЯ ПРАКТИКИ

1. Методичні вказівки щодо визначення омайту (пропаргіту) в об’єктах тваринного походження (м’ясо, жир, молоко, яйце) способами газорідинної та тонкошарової хроматографії (затверджені Головою Державного департаменту ветмедицини Міністерства аграрної політики України, наказ № 53 від 30 червня 2005 р.).

2. Діагностика отруєння тварин омайтом повинна включати аналіз анамнестичних даних, клінічних симптомів і патологоанатомічних змін; при цьому необхідно обов’язково проводити визначення наявності залишкових кількостей пестициду у вмістимому шлунку і товстого кишечнику, а також в пробах м’язової і жирової тканини. При постановці зажиттєвого діагнозу для дослідження на вміст препарату слід відбирати проби калу хворих тварин.

3. Профілактичні заходи з попередження отруєння омайтом сільськогосподарських тварин повинні передбачати ретельне дотримання правил безпеки при зберіганні та транспортуванні пестициду, недопущення контакту з тваринами під час проведення обробки рослин, а також, з урахуванням результатів моніторингу залишкових кількостей акарициду в довкіллі, запобігання випасу тварин на оброблених ділянках та на прилеглих територіях протягом 21 доби.

4. Результати дисертаційної роботи рекомендуємо використовувати для подальшої науково-дослідної роботи та включати в програму дисципліни “Токсикологія” для студентів факультетів ветеринарної медицини вищих навчальних закладів ІІІ і ІV рівнів акредитації.

## СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Герілович І.О. Вивчення хроматографічних властивостей омайту при розробці способу визначення його в продуктах тваринного походження // Вет. мед.: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – 2004. – Вип. 83. – С. 39-42.
2. Герілович І.О. Спосіб визначення омайту в продуктах тваринного походження методом тонкошарової хроматографії // Вет. мед.: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – 2004. – Вип. 84. – С. 208-212.
3. Малінін О.О., Куцан О.Т., **Герілович І.О.** Динаміка вмісту залишкових кількостей омайту в об’єктах довкілля після обробки винограду і яблунь // Вет. мед.: Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – 2005. – Вип. 85. – С. 728-732. *(Дисертант провів експериментальні дослідження, обробку отриманих даних та їх узагальнення).*
4. **Герілович І.**, Герілович А. Визначення цитотоксичної дії омайту на культурах клітин // Вет. мед. України. – 2005. – № 8. – С. 42-44. *(Здобувач провів літературний пошук, підібрав методичні прийоми і брав участь у проведенні експериментальних досліджень).*
5. Герілович І.О. Гостра токсичність омайту для білих щурів // Вісник аграрної науки. – 2005. – № 9. – С. 78-80.
6. Малинін О.О., Куцан О.Т., **Герілович І.О.** Токсикокінетичні властивості омайту після перорального уведення // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. – 2005. – Вип. 33. – С. 159-165. *(Дисертант брав участь у розробці схеми досліду, провів експериментальні дослідження, проаналізував і статистично обробив отримані результати).*
7. Герілович І.О. Щодо аспектів дерматотоксичності омайту для кролів // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДІ ветпрепаратів і кормових добавок. – Львів, 2005. – Вип. 6. – № 3. – С. 100-106.
8. Патент 70032 А Україна, 7G01N33/00. Спосіб визначення омайту (пропаргіту) в біологічних об’єктах / **І.О. Герілович**, О.О. Малинін, О.Т. Куцан (Україна). – № 20031212176; Заявлено 23.12.2003; Опубл. 15.09.2004, Бюл. 9. – 3 с. *(Здобувач провів експериментальні дослідження і оформив заявку на патент).*
9. Патент 71440 А Україна, 7G01N33/00. Спосіб виявлення омайту (пропаргіту) на тонкошарових хроматограмах / І.О. Герілович (Україна). – № 20031213026; Заявлено 30.12.2003; Опубл. 15.11.2004, Бюл. 11. – 2 с.

**Герілович Ірина Олександрівна. Токсико-екологічна характеристика омайту (пропаргіту). – Рукопис.**

*Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата ветеринарних наук за спеціальністю 16.00.04 – ветеринарна фармакологія та токсикологія. – Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини УААН, Харків, 2006.*

Дисертація присвячена вивченню токсичних властивостей омайту (пропаргіту), особливостей його персистенції у довкіллі та розробці методики визначення залишкових кількостей пестициду в біосубстратах.

В роботі наведені результати хіміко-аналітичних досліджень з вивчення хроматографічних властивостей омайту та способів його виявлення на хроматографічних пластинках. Розроблена методика визначення залишкових кількостей пестициду в об’єктах тваринного походження (м’ясо, жир, внутрішні органи, молоко, яйця) газорідинною та тонкошаровою хроматографією.

В дослідах на перещеплюваних культурах клітин вивчені цитотоксичні та мітогенні властивості пестициду. Отримані дані щодо характеру розподілення пестициду в організмі ссавців і птиці. Встановлено підсилюючу дію омайту на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів. Доведено, що досліджуваний препарат є сильно подразнюючою речовиною, а також характеризується резорбтивною дією.

Проведено моніторинг залишкових кількостей омайту в довкіллі після використання його у виробничих умовах. Встановлено, що пестицид у деяких об’єктах довкілля зберігається довше 14 тижнів після проведення обробки. А період, за який концентрація препарату на рослинах зменшується вдвічі, може бути описаний за допомогою математичної моделі кінетичного процесу першого порядку.

**Ключові слова:** омайт, пропаргіт, залишкові кількості газорідинна хроматографія, тонкошарова хроматографія, токсикокінетика, токсикодинаміка, персистенція в довкіллі.

**Герилович Ирина Александровна. Токсико-экологическая характеристика омайта (пропаргита). – Рукопись.**

*Диссертация на соискание научной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 16.00.04 – ветеринарная фармакология и токсикология. Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины УААН, Харьков, 2006.*

Диссертация посвящена изучению токсических свойств омайта (пропаргита), особенностей его персистенции в окружающей среде и разработке методики определения остаточных количеств пестицида в биосубстратах.

В работе приведены результаты химико-аналитических исследований хроматографических особенностей омайта и способов выявления его на хроматографических пластинках. Разработана методика определения остаточных количеств пестицида в объектах животного происхождения (мясо, жир, внутренние органы, молоко, яйца), которая базируется на идентификации омайта газожидкостной или тонкослойной хроматографией после извлечения из пробы ацетоном, очистки способами фильтрации, вымораживания и перераспределения в гексан, доочистки на хроматографической колонке с оксидом алюминия. Экспериментальными исследованиями установлено, что данная методика является специфичной, точной, линейной и воспроизводимой.

В опытах на перевиваемых культурах клеток изучены цитотоксические и митогенетические свойства омайта.

Определена среднесмертельная доза омайта для крыс, которая при пероральном введении составила 1293,0 ± 39,5 мг/кг массы тела, что позволило классифицировать пестицид как малотоксичное соединение.

Изучена токсикокинетика омайта в организме млекопитающих и птиц после одноразового перорального введения на модели крыс и курей. Показано, что уже через четыре часа после введения пестицид распределяется практически во все органы и ткани организма. Максимальное количество остаточных количеств омайта находили в желудочно-кишечном тракте, жире и мышцах.

Показано, что изучаемый пестицид при пероральном его введении или нанесении на кожу приводит к усилению интенсивности процессов перекисного окисления липидов в организме животных и активации эндогенной антиоксидантной системы, при чем данный эффект прямо зависит от величины дозы. Доказано, что апликация на кожу даже 0,2 % водной эмульсии пестицида приводит к поражению обработанного участка, которое развивается по типу экзематозного дерматита.

Проведен мониторинг остаточных количеств пестицида в окружающей среде после его использования в полевых условиях. Установлено, что пестицид на некоторых объектах окружающей среды сохраняется дольше 14 недель после проведения обработки. А период, за который его концентрация на растениях уменьшается в два раза, может быть описан с помощью математической модели кинетического процесса первого порядка.

**Ключевые слова:** омайт, пропаргит, остаточные количества, газожидкостная хроматография, тонкослойная хроматография, токсикокинетика, токсикодинамика, персистенция в окружающей среде.

**Gerilovich Irina Olexandrivna. Toxico-ecological characteristic of omite (propargite). – Manuscript.**

*Thesis for scientific degree of the candidate of veterinary sciences on speciality 16.00.04 – veterinary pharmacology and toxicology. Institute of experimental and clinical veterinary medicine UAAS, Kharkov, 2006.*

The thesis is devoted to studying of omite (propargite) toxicity properties, its peculiarities of persistence in an environment and to developing of methodic for determine of pesticide residues in bioobjects.

The results of chemical-analytical researches of omite chromatographic properties and methods for its revelation on chromatographic plates are described in this work. The methodic of pesticide residues determine in animal objects (meat, fat, internal organs, milk, eggs) by gasliquid and thinglayer chromatography was developed.

The cell toxicity and mitogenic effects were studied on continuous cell lines. The data about pesticide character of dissipation in mammal and bird organism were obtained. It was established that omite intensifies processes of lipids peroxidation. It was demonstrated that omite is corrosive preparation and has resorbtion effects.

Monitoring of omite residues in environment after the application in the production conditions was conducted. It was determined that pesticide was safe in a some environmental objects more than 14 weeks after application and the process of omite residues decrease in plants was the first order kinetic process.

**Keywords:** omite, propargite, residues, gasliquid chromatography, thinglayer chromatography, toxycokinetics, toxycodynamics, persistence in the environment.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>